

## Artículo original

# Bacilos gramnegativos no fermentadores en agua embotellada: susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelículas

Tomás Rojas<sup>a,d</sup>, Elisa Márquez<sup>a</sup>, Roxana Lugo<sup>a</sup>, María Machado<sup>a</sup>, Ysvette Vásquez<sup>c</sup>, Yolima Fernández<sup>b</sup>, Marielsa Gil<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Microbiología, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, <sup>b</sup>Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional, Escuela de Bioanálisis, <sup>c</sup>Centro de Investigaciones Microbiológicas Aplicadas (CIMA), Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela. <sup>d</sup>Hospital Estadal "Los Samanes", CORPOSALUD, Maracay, estado Aragua, Venezuela.

Recibido 10 de marzo de 2014; aceptado 21 de julio de 2014

**Resumen:** El agua puede ser un vehículo para agentes patógenos y oportunistas portadores de multiresistencia y con capacidad de formar biopelículas (CFB). Se evaluó la presencia de indicadores microbiológicos y bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF) en agua potable envasada y se estudió la susceptibilidad antimicrobiana y la CFB de los mismos. Se seleccionaron al azar 50 muestras de 250 mL obtenidos de envases de agua potable (20 L), provenientes de igual número de hogares. A cada muestra le fue realizado recuento de heterótrofos aerobios (vertido en placa), coliformes totales y termotolerantes (filtración por membrana), CFB (microplaca) y susceptibilidad antimicrobiana (Kirby-Bauer). El 92% y el 84% de las muestras presentaron coliformes totales y termotolerantes respectivamente, valores por encima de lo establecido en la Gaceta Oficial Venezolana N.º 36.395, mientras que el 86% presentó heterótrofos aerobios con cuentas >100 UFC/mL. El mayor porcentaje de BGNNF aislados perteneció al complejo *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* (29,3%), seguido de *Pseudomonas aeruginosa* (17,4%), con moderada capacidad de formar biopelículas. No hubo asociación significativa entre la resistencia antimicrobiana y la CFB ( $p>0,05$ ). Un porcentaje elevado de las muestras, no se ajustó a los parámetros microbiológicos establecidos en Gaceta, por lo que no se garantiza la inocuidad de las mismas.

**Palabras clave:** agua potable envasada, calidad microbiológica, bacilos gramnegativos no fermentadores, biopelículas, resistencia antimicrobiana.

## Non fermenting Gram negative bacilli in bottled water: antimicrobial susceptibility and biofilms formation

**Abstract:** Water can be a vehicle for multiresistant carrier pathogenic and opportunist agents with biofilm forming capacity (BFC). The presence of microbiological indicators and non fermenting Gram negative bacilli (NFGNB) was evaluated in bottled drinking water, as well as their antimicrobial susceptibility and BFC. Fifty 250 mL drinking water samples were randomly selected from 20 L drinking water bottles from the same number of homes. Each sample was tested for aerobic heterothrophics (discharged in a plate) counts, total and thermo tolerant coliforms (membrane filtration), BFC (microplate) and antimicrobial susceptibility (Kirby-Bauer). The results showed that 92% and 84% of the samples carried total and thermo tolerant coliforms respectively, values above those established in the Venezuelan Official Gazette N.º 36,395, while 86% presented aerobic heterothrophics with counts >100 CFU/mL. The highest percentage of isolated NFGNBs belonged to the *Acinetobacter baumannii/calcoaceticus* complex (29.3%), followed by *Pseudomonas aeruginosa* (17.4%) which has a moderate biofilm formation capacity. There was no significant association between antimicrobial resistance and the BFC ( $p>0.05$ ). A high percentage of the samples were not adjusted to the biological parameters established in the Official Government Gazette; therefore, it is not possible to guarantee their safety.

**Keywords:** bottled fresh water, microbiological quality, non fermenting Gram negative bacilli, biofilms, antimicrobial resistance.

\* Correspondencia:  
E-mail: marielsagilfd@hotmail.com

### Introducción

La calidad microbiológica del agua para uso humano es de

suma importancia para la sociedad [1], de allí que la Gaceta Oficial Venezolana N.º 36.395 que contempla las Normas Sanitarias de Calidad del Agua Potable, establece que el agua

destinada para el consumo debe cumplir con parámetros físicos, químicos, organolépticos y microbiológicos dentro de niveles que no representen un riesgo significativo para la salud [2]. Los sistemas de abastecimiento de agua potable, tanto públicos como privados, están sujetos al cumplimiento de estas normas, de lo contrario pueden servir de vehículo de bacterias, virus y protozoos de origen fecal, convirtiéndose en un grave problema de salud pública [1].

La detección de microorganismos heterótrofos en el agua para consumo tiene poco valor cuando se trata de relacionar con el índice de la presencia de microorganismos patógenos, por cuanto no hay asociación de su presencia en el agua con la posibilidad de producir trastornos gastrointestinales; sin embargo, se utilizan como indicadores de buenas prácticas de potabilización; adicionalmente, este grupo puede ser usado para evaluar la limpieza e integridad de los sistemas de distribución, por lo que no se justifica su presencia en concentraciones elevadas en el agua potable para consumo [3].

Dentro del grupo de microorganismos heterótrofos están incluidos los bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF); algunos de ellos son parte de la microbiota habitual del hombre, encontrándose ampliamente distribuidos en las heces, suelo, agua de mar y agua dulce, en esta última con gran capacidad de multiplicación [4].

La mayoría de estos microorganismos son patógenos oportunistas asociados a infecciones nosocomiales y a infecciones en pacientes inmunocomprometidos, así como también son resistentes a muchos antimicrobianos de uso clínico, presentando una elevada capacidad de adquirir nuevos mecanismos de resistencia por intercambio genético, favorecido en el medio acuático por la formación de biopelículas [5]. Éstas se desarrollan a partir de un acondicionamiento superficial con restos orgánicos en la interfaz agua-sólido [6]. El agua embotellada es un medio ideal para la formación de las mismas, ofreciendo así, el ambiente propicio de contacto con genes de resistencia, que aumenta la transferencia genética y la resistencia a los procesos de desinfección, perpetuando de esta manera su ciclo de vida en el contenedor plástico del agua potable de consumo [5-7].

Debido a las precarias condiciones de salubridad en la que se encuentra la red hidrológica estatal [8], el sector del agua potable envasada ha crecido rápidamente, convirtiéndose en uno de los negocios con mayor demanda en la actualidad, pero también uno de los menos regulados desde el punto de vista microbiológico, lo que ha dado lugar a situaciones que posiblemente coloquen en riesgo la salud de la población [6,7]. Por ello, el presente estudio evaluó la calidad microbiológica del agua envasada, la presencia de BGNNF, su capacidad de formación de biopelículas (CFB) y los patrones de susceptibilidad frente a diversos antibióticos, resaltando así el impacto e importancia que representan estas variables para el sector salud.

## Materiales y métodos

El estudio fue realizado en la zona residencial La Campiña I del municipio Naguanagua del estado Carabobo Venezuela (10° 15' 59.5578", -68° 1' 0.0654"). Luego de la autorización de la asociación de vecinos de la zona residencial y del jefe de familia de las viviendas visitadas, se seleccionaron muestras de 50 hogares a través de un muestreo aleatorio simple. Se recolectaron muestras de 250 mL de agua en condiciones asépticas a partir de envases de agua potable de 20 L de capacidad que se encontraban selladas de fábrica. Las muestras para el análisis microbiológico se depositaron en frascos estériles con tiosulfato de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) al 10% para inactivar el cloro residual que pueda estar o no presente, tal como lo recomienda la American Public Health Association (APHA) [9]. Fueron procesadas cinco (5) muestras semanales por un período de diez semanas para un total de 50 unidades (1 por cada hogar). Todas las muestras se trasladaron al laboratorio en cavas refrigeradas y procesadas en un tiempo menor a 2 horas.

*Cuantificación de bacterias heterótrofas, coliformes totales, termotolerantes y bacilos gramnegativos no fermentadores:* La cuantificación de bacterias heterótrofas (BH), se realizó por el método de vertido en placa recomendado por la APHA y se expresó en UFC/mL [9].

El recuento de coliformes totales (CT), coliformes termotolerantes (CTT) y BGNNF se efectuó por la técnica de filtración por membrana, reportándose en UFC/100mL. Cada muestra de 100 mL por duplicado se filtró a través de una membrana de celulosa con poros de 0,45 µm, depositándose luego cada membrana sobre placas de agar bilis rojo violeta (ABRV), incubándose a 35 °C y 44,5 °C por 24 h para la detección de CT y CTT respectivamente [9] y sobre agar Mac Conkey para los BGNNF.

Una vez realizado el conteo en cada placa, se hizo una selección aleatoria, de tres colonias típicas de BGNNF destinada a la conformación de una bacterioteca (los aislados fueron mantenidos en agar soya tripticaseína semi-sólida hasta su selección y posterior identificación). De esta bacterioteca se seleccionaron de forma aleatoria 100 aislados, los cuales fueron inoculados en caldo infusión cerebro corazón a 35±1 °C durante 24 h para la obtención de cepas cultivables, recuperándose 92 cepas que fueron nuevamente aislados en agar sangre, siguiendo los esquemas de diagnóstico específicos para la identificación de coliformes totales y BGNNF, descritos por Koneman *et al.* [4], así como, por los sistemas automatizados de identificación microbiana VITEK® y API 20 NE [10].

*Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana:* La susceptibilidad frente a los antimicrobianos se determinó para el total de BGNNF aislados (67) por ensayos de difusión en discos (Kirby-Bauer) [11]. Los antibióticos evaluados fueron: ceftazidime/ácido clavulánico (CAZ/CLA 30 µg), ceftazidime (CAZ 30 µg), imipenem (IMP 10 µg), meropenem (MER 10 µg), piperacilina/tazobactam (PTZ 100/10 µg), cipro-

floxacina (CIP 5 µg), amikacina (AMK 30 µg), cefepime (FEP 30 µg), gentamicina (GM 10 µg), aztreonam (ATM 30 µg), levofloxacin (LVX 5 µg), trimetoprim/sulfametoxazol (SXT 1,25/23,75µg), polimixina B (PB 10µg) y se adicionó un disco de EDTA/tioglicolato sódico (por disco: 10 µL de 2 volúmenes de solución EDTA 0,5 M y 3 volúmenes de solución tioglicolato sódico 300 mg/mL), equidistante entre los discos de imipenem y meropenem, para la detección fenotípica de metalo-β-lactamasas (MBL). La aparición de áreas sin crecimiento (sinergia) entre el disco de EDTA y al menos uno de los carbapenemas se considera positivo para MBL. También se consideró la ubicación estratégica de los discos de (CAZ/CLA), (CAZ), (IMP) y (PTZ) sobre la placa de agar Müeller-Hinton para la detección fenotípica de aislados productores de β-lactamasas de espectro extendido BLEE (ampliación entre los halos de inhibición) y β-lactamasas tipo AmpC (halo de inhibición truncado), según lo descrito en Radice *et al.* y Corso *et al.* [12,13].

**Evaluación de la capacidad de formación de biopelículas:** La determinación de CFB se realizó para todos los BGNNF aislados (67) mediante un ensayo en microplacas de poliestireno de 96 pozos (método colorimétrico) descrito por Stephanovic *et al.* [14]. Se preparó una suspensión bacteriana ajustada al patrón 0,5% McFarland en caldo soya tripticaseina (CST) utilizando un espectrofotómetro (Jenway 6405, Bibby Scientific, Ltd, Dunmow, Reino Unido). De esta suspensión se dispensaron 20 µL en cada pozo, más 180 µL de CST con glucosa al 0,25% (dilución 1:10) para luego incubar en cámara húmeda por 24 horas a 37 °C. Pasada la incubación, en cada pozo, se realizaron dos lavados con solución buffer fosfato salino estéril (PBS, pH 7,2). Se añadieron 200 µL de solución de cristal violeta al 0,01% manteniéndose a temperatura ambiente por 30 min y posteriormente se realizaron dos nuevos lavados con solución PBS. Seguido a esto se adicionaron 200 µL de etanol al 95% para solubilizar el colorante adherido a las paredes, cuantificándose su densidad óptica (DO) a 490 nm en un lector de ELISA (Stat Fax 2100, Awareness Technology, Inc. Palm City, FL 34990) como una estimación de la capacidad de formación de biopelículas.

Cada aislado se evaluó por cuadruplicado, incluyendo 2 controles negativos, para un total de 8 pozos controles sin suspensión bacteriana. La CFB de cada cepa fue clasificada de acuerdo al esquema descrito por Stephanovic *et al.* [14]. Este método consiste en calcular el punto de corte denominado densidad óptica control (DOC), el cual se obtuvo promediando las lecturas de las densidades ópticas de los controles negativos más 3 desviaciones estándar. Se interpretó como débilmente formadora de biopelículas aquellas con una DO inferior a la DOC, cepas moderadamente formadoras aquellas con una DO superior a la DOC y 2 veces inferior a la DOC y fuertemente formadoras aquellas que presenten una DO 2 veces superior a la DOC.

**Análisis estadístico:** El análisis fue descriptivo, basado en cálculos de frecuencias, porcentajes, media y desviación

estándar. Para establecer la asociación entre la CFB y susceptibilidad antimicrobiana se utilizó la prueba Chi<sup>2</sup> de Pearson empleando un nivel de confianza del 95%. Todos los datos se procesaron a través del paquete estadístico SPSS versión 18.

## Resultados y discusión

En las muestras analizadas se aislaron CTT en el 84%, CT en el 92%, BH en el 86% y BGNNF en el 82%. La evaluación microbiológica de las muestras de agua envasada se presenta en la figura 1. En todos los casos se encontraron altos porcentajes de muestras con recuentos por encima de 100 UFC/100 mL para CTT, CT y BGNNF y mayor de 100 UFC/mL para BH. Los resultados indican la presencia de una posible contaminación del agua potable estudiada, haciéndola no apta para el consumo según las exigencias descritas en la Gaceta Oficial N° 36.395 de la República Bolivariana de Venezuela [2]. Estos resultados son similares a los reportados por Jeena *et al.*, quienes encontraron que más del 40% de muestras de agua para consumo procedentes de seis estados de la India presentaban BH con más de 100 UFC/mL y de éstas el 44% presentó CT, resultados que no se ajustan a las normas establecidas [15]. Igualmente, Kassenga estableció que el 92% del agua envasada analizada en diferentes sitios de expendio de Tanzania presentaron BH y CTT en 3,6% para ambas [16].

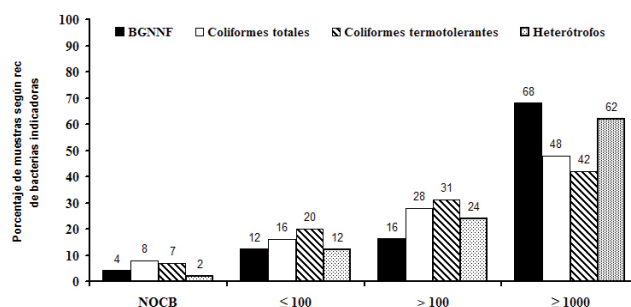


Figura 1. Recuento de heterótrofos, bacilos gramnegativos no fermentadores, coliformes totales y coliformes termotolerantes en agua potable envasada.

NOCB: no se observó crecimiento bacteriano; BGNNF: bacilos gramnegativos no fermentadores. El número de UFC se expresa en 100 mL de agua para BGNNF, Coliformes totales, Coliformes termotolerantes y en 1 mL de agua para Heterótrofos.

En Brasil, Da Silva *et al.* [17] determinaron la presencia de CT, *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* y *Staphylococcus* spp. y los resultados mostraron que el 36,4% de las muestras de agua del grifo de sistemas municipales y 76,6% de los envases de 20 L de agua mineral, estaban contaminados por al menos una bacteria del grupo de coliformes o una bacteria patógena. La presencia de coliformes y población heterotrófica en general en agua de consumo es posible ante la ausencia de medidas higiénicas rigurosas y deficiencias en la cloración, además, de la probable contaminación durante los procesos inherentes al embotellamiento, almacenamiento y distribución [6].

En la tabla 1, se muestra el porcentaje de aislamientos

Tabla 1. Identificación según género y especie de los aislados de bacilos gramnegativos no fermentadores y coliformes totales de las muestras de agua potable embotellada.

Caracterización fenotípica	Total microorganismos aislados n: 92 (100%)			
	Coliformes Totales		Bacilos gramnegativos no fermentadores	
	Nº aislado	%	Nº aislado	%
Complejo <i>Pantoea agglomerans</i>	6	6,5		
<i>Enterobacter</i> spp.	1	1,1		
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	7,6		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	7,6		
<i>Klebsiella ozaenae</i>	2	2,2		
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	1,1		
<i>Citrobacter koseri</i>	1	1,1		
Complejo <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>			27	29,3
<i>Acinetobacter junii</i>			2	2,2
<i>Acinetobacter</i> spp.			15	16,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			16	17,4
<i>Pseudomonas mendocina</i>			1	1,1
<i>Pseudomonas putida</i>			2	2,2
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>			1	1,1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>			3	3,2
Total	25	27,2	67	72,8

por género y especie de 92 cepas seleccionadas al azar de la bacteriotea de aislamientos, de los cuales el 72,8% (67) correspondió a BGNNF y el 27,2% (25) a coliformes totales. Los BGNNF aislados con mayor frecuencia fueron el Complejo *A. baumannii/calcoaceticus* y *P. aeruginosa* con un 29,3% y 17,4% respectivamente. En tanto que las especies más aisladas en el grupo de los coliformes totales fueron *K. pneumoniae* y *E. cloacae*, ambas en 7,6%. Cabe destacar, que estos microorganismos son sensibles a los tratamientos químicos, por tanto, las medidas de control diseñadas para limitar la formación de biopelículas, el tratamiento para optimizar la eliminación del carbono orgánico, la restricción del tiempo de residencia del agua en los sistemas de distribución y el mantenimiento de concentraciones residuales de desinfectantes, deberían reducir la proliferación de los mismos [6,7]. Es importante

mencionar que recuentos elevados de *P. aeruginosa* en el agua potable no solo representan un riesgo para la salud, sino también afectan sus características organolépticas [1].

En los BGNNF aislados se observaron altos porcentajes de sensibilidad a los antimicrobianos evaluados (Tabla 2), por lo que se puede inferir que son microorganismos autóctonos del ambiente, que no han estado en contacto con antimicrobianos o genes de resistencia, presentando en su mayoría fenotipos de resistencia propios de la especie [18]. En el agua estudiada se obtuvieron tres aislados de *S. maltophilia* los cuales mostraron patrones de resistencia naturales intrínsecos de la especie, entre ellos, la presencia de  $\beta$ -lactamasa cromosómica dependiente de zinc (Metallo- $\beta$ -lactamasa L1) lo que permite describir el potencial que tiene esta especie como reservorio para determinantes móviles de resistencia, intercambiando dicho material con otros grupos bacterianos.

En lo que respecta al Complejo *A. baumannii/calcoaceticus*, *P. aeruginosa* y *P. putida*, mostraron patrones de resistencia adquirida a ceftazidima, ciprofloxacina y meropenem respectivamente, lo cual representó un dato importante, debido a que estos antibióticos resultan ser de primera elección en terapias antimicrobianas frente a estos microorganismos. Pinilla y col. determinaron el impacto de un programa de control en los consumos de antibióticos en pacientes quirúrgicos, indicando que los antibióticos más utilizados en los servicios quirúrgicos son las cefalosporinas seguido por metronidazol, ciprofloxacina, penicilinas y cotrimoxazol [19]. La contaminación del agua de consumo con microorganismos multiresistentes provenientes del ambiente hospitalario, propicia el contacto con bacterias autóctonas y la diseminación de fenotipos de resistencia adquiridos [20]. La resistencia a antimicrobianos constituye un problema grave de salud pública y la presencia de dichos patrones de resistencia en los BGNNF lo son aún más, ya que son patógenos oportunistas y con gran capacidad de colonización, representando un riesgo latente para los consumidores de agua potable envasada, especialmente personas en edades extremas e inmunodeprimidas [3,20].

Los resultados de la CFB se muestran en la figura 2. El 98,5% (66) de los BGNNF aislados, resultaron ser moderadamente formadores de biopelículas, obteniéndose densidades ópticas entre 0,418 y 0,836 a excepción de *P. mendocina* 1,5% (1) que fue débilmente formadora, con una densidad óptica menor de 0,418. El alto porcentaje aislado de BGNNF (72,8%) es quizás debido a su CFB, ya que las mismas suelen disminuir la eficiencia de los procesos de desinfecciones habituales de estas aguas para consumo y concentrar la carga de bacterias en la superficie del contenedor plástico y al mismo tiempo en el agua que la contiene; estos resultados coinciden con Jagals *et al.*, que evaluaron la asociación de la CFB con la calidad microbiológica del agua para consumo en contenedores plásticos, demostrando que los niveles de contaminación del agua estudiada fueron proporcionales a la CFB de los microorganismos que aislaron a elevadas concentraciones [21]. Así mismo, Bryers señala que en los hospitales estadounidenses las biopelículas

Tabla 2. Distribución de la susceptibilidad antimicrobiana de los aislados de BGNNF de las muestras de agua potable embotellada.

Especie aislada	Mecanismo de resistencia															
	MEM	SXT	CAZ	IMP	TZP	FEP	LVX	PB	AMK	CIP	ATM	GM	BLEE	MBL	PDC inducible	ADC inducible
Complejo <i>Acinetobacter baumannii/calcoaceticus</i>	0/27	0/27	1/27	0/27	0/27	0/27	-	-	0/27	0/27	-	0/27	No	No	-	No
<i>A. junii</i>	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	-	-	0/2	0/2	-	0/2	No	No	-	No
<i>Acinetobacter</i> spp.	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	0/15	-	-	0/15	0/15	-	0/15	No	No	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	0/16	-	0/16	0/16	0/16	0/16	-	0/16	0/16	1/16	2/16	0/16	No	No	Si	-
<i>P. mendocina</i>	0/1	-	0/1	0/1	0/1	0/1	-	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	No	No	No	-
<i>P. putida</i>	1/2	-	0/2	0/2	0/2	0/2	-	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	No	No	No	-
<i>P. pseudoalcaligenes</i>	0/1	-	0/1	0/1	0/1	0/1	-	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1	No	No	No	-
<i>S. maltophilia</i>	-	0/3	-	-	-	-	0/3	-	-	-	-	-	Si	Si	-	-

n/N: En el numerador n, el número de cepas resistentes o con sensibilidad intermedia y el denominador N, el número de cepas aisladas. BLEE:  $\beta$ -lactamasas de Espectro Extendido. MBL: Metallo- $\beta$ -lactamasas. PDC: Cefalosporinas derivadas de *Pseudomonas*. ADC: Cefalosporinas derivadas de *Acinetobacter*. No: Ningún aislado presentó este mecanismo. Si: aislados presentaron este mecanismo.

formadas por los microorganismos han causado incluso la muerte en pacientes, ya que aumenta la probabilidad de colonización de dispositivos como válvulas, catéteres, marcapasos, entre otros, además de aumentar su resistencia a los antimicrobianos [22].

La CFB se vió favorecida tanto por el medio hídrico como por la superficie inerte de los contenedores plásticos del agua embotellada, así como en las plantas purificadoras, [6] lo cual proporciona las condiciones ideales de contacto bacteriano, pudiendo producirse la transferencia de genes de resistencia mediante elementos plasmídicos, favoreciendo la diseminación de resistencia a otros microorganismos, lo que pone en posible riesgo a los consumidores [7,20, 21,23].

Por otra parte, no se observó asociación significativa entre la CFB y los patrones de resistencia a los antimicrobianos de los BGNNF ( $p=0,345$ ). Es conveniente resaltar que tres

aislados de BGNNF mostraron fenotipos de resistencias adquiridas, y que los mismos al tener una moderada CFB, pudieran mediante transferencia horizontal, diseminar estos genes de resistencia a microorganismos no resistentes que formen parte de la biopelícula. El papel del medio ambiente en la aparición y propagación de bacterias resistentes a los antibióticos, sus posibles vías y la forma en que las bacterias ambientales contribuyen a la propagación de genes de resistencia aún no están claras, sin embargo, las bacterias han desarrollado diferentes mecanismos para dejar sin efecto los antibióticos que se utilizan contra ellas [20].

## Conclusiones

El agua embotellada evaluada resultó en gran porcentaje no apta para consumo según los niveles microbiológicos establecidos en la Gaceta Oficial N° 36.395. Los recuentos elevados para ciertos grupos indicadores pueden deberse a procesos de desinfección deficiente de dicha agua. A pesar de que no hay evidencia de infecciones gastrointestinales con la presencia de BGNNF, estos patógenos oportunistas fueron aislados en alta concentración, existiendo un riesgo latente de colonización.

Por otra parte, la capacidad moderada de formación de biopelículas de los BGNNF aislados, podría explicar el alto porcentaje encontrado de CT, CTT, BH, ya que estas pueden disminuir la eficiencia de los procesos de desinfección habituales del agua potable envasada y concentrar la carga de bacterias en la superficie del contenedor plástico y a su vez aislarse en el agua que contienen.

Finalmente, aun cuando no hubo asociación significativa entre la capacidad de formación de biopelículas y los patrones de resistencia, es importante destacar que las biopelículas propician el contacto bacteriano, esto relacionado con el

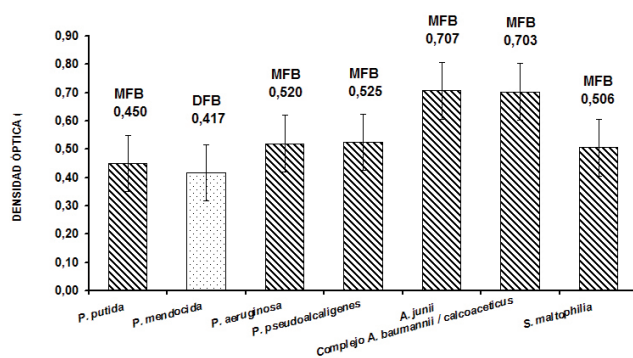


Figura 2. Capacidad de formación de biopelículas en BGNNF. DOC: Densidad óptica control (DOC=0,418); DO: Densidad óptica promedio de la especie de BGNNF; DFB: Débilmente formador de biopelículas ( $DO \leq DOC$ ;  $DO \leq 0,418$ ); MFB: Moderadamente formador de biopelículas ( $DOC \geq DO \leq 2 \times DOC$ ;  $0,418 \geq DO \leq 0,836$ ); FFB: Fuertemente formador de biopelículas ( $DO \geq 2 \times DOC$ ;  $DO \geq 0,836$ ).

hallazgo de bacterias con patrones fenotípicos de resistencia adquirida en el agua potable para consumo, es una alerta que debe llamar la atención de organismos gubernamentales para el control de calidad de las mismas, pues existe el riesgo no solo de afectar a la población con agentes patógenos y oportunistas, sino que además el agua de consumo sea una vía de diseminación de bacterias multiresistentes.

## Referencias

- World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality. Fourth edition. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2011.
- Normas Sanitarias de Calidad del Agua. Gaceta Oficial de la República de Venezuela N° 36.395. Caracas 1998.
- Mena D, Gerba C. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. Rev Environ Cont Toxicol. 2009; 201:71-115.
- Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W, Procop G, Schreckenberger P *et al*. Diagnóstico microbiológico. 6<sup>a</sup> ed. Madrid-España: Editorial Médica Panamericana; 2008.
- Betancourth M, Botero J, Rivera S. Biopelículas: Una comunidad microbiana en desarrollo. Colombia Médica. 2004; 35 (3):34-9.
- Díaz J, Caraballo H, Villareal M, Lobo H, Rosario J, Briceño J y col. ¿El agua embotellada es adecuada para nuestro consumo? Academia. 2007; 6 (11):2-12.
- Rojas T, Montoya A, Moreno A, Mujica R, Vásquez Y. Formación de biopelículas y susceptibilidad antimicrobiana entre coliformes aislados en agua potable embotellada en Carabobo, Venezuela. Bol Mal Salud Amb. 2012; 52:87-97.
- Red de Sociedades Científicas Médicas Venezolanas. Contaminación del agua de consumo humano en los estados Carabobo, Aragua y Cojedes. Un grave problema de salud pública. Alerta Epidemiológica N° 227. Disponible en: [http://www.rscmv.org.ve/pdf/ALERTA\\_227.pdf](http://www.rscmv.org.ve/pdf/ALERTA_227.pdf). Acceso: 12 de junio 2014.
- American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater, 20<sup>th</sup>ed. Washington D.C, USA. 1998
- Bosshard P, Zbinden R, Abels S, Böddinghaus B, Altwegg M, Böttger E. 16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. Clin Microbiol. 2007; 45:2270-3.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility testing; twentieth informational supplement. Document M100-S23E. Wayne PA, USA; 2013.
- Corso A, Guerriero L, Pasterán F, Ceriana P, Callejo R, Prieto M y col. Capacidad de los laboratorios nacionales de referencia en Latinoamérica para detectar mecanismos de resistencia emergentes. Rev Panam Salud Pública. 2011; 30:619-26.
- Radice M, Marín M, Giovanakis M, Vay C, Almuzara M, Limansky A y col. Criterios de ensayo, interpretación e informe de las pruebas de sensibilidad a los antibióticos en los bacilos gramnegativos no fermentadores de importancia clínica: recomendaciones de la Subcomisión de Antimicrobianos de la Sociedad Argentina de Bacteriología, Micología y Parasitología Clínicas, Asociación Argentina de Microbiología. Rev Arg Microbiol. 2011; 43: 136-53.
- Stepanovic S, Cirkovic I, Raning L, Svabic M. Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. Lett Appl Microbiol. 2004; 38:428-32.
- Jeena M, Deepa P, Mujeeb Rahiman K, Shanthi T, Hatha A. Risk assessment of heterotrophic bacteria from bottled drinking water sold in Indian markets. Int J Hyg Environ Health. 2006; 209: 191-6.
- Kassenga G. The health-related microbiological quality of bottled drinking water sold in Dar es Salaam, Tanzania. J Water Health. 2007; 5: 179-85.
- Da Silva M, Santana R, Guilhermetti M, Filho I, Endo EH, Nakamura T *et al*. Comparison of the bacteriological quality of tap water and bottled mineral water. Iny J Hyg Environ Health. 2008; 211:504-9.
- Carrillo R, Martínez J, Mendoza J. Infección de tejidos blandos por *Stenotrophomonas maltophilia* en un paciente con anemia aplásica. Med Int Mex. 2012; 28:621-5.
- Pinilla R, Pisonero J, Guanache H, Fiterre I, Mir J, Enseñat R. Impacto de un programa de control en los consumos de antibióticos en pacientes quirúrgicos. Rev Cubana Cir. 2013; 52:2-12
- Schwartz T, Kohnen W, Jansen B, Obst U. Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. FEMS Microbiol Ecol. 2003; 43:325-35
- Jagals P, Jagals C, Bokako T. The effect of container-biofilm on the microbiological quality of water used from plastic household containers. J Water Health. 2003; 1:101-8.
- Bryers J. Medical Biofilms. Biotechnol Bioeng. 2008; 100:1-18.
- Ahmad B, Liaquat M, Ali J, Bashir S, Mohammad S, Abbas S, Hassan S. Microbiology and evaluation of antibiotic resistant bacterial profiles of drinking water in Peshawar, Khyber Pakhtunkhwa. World Appl Sci J. 2014; 30:1668-77.